УДК 547.995.15+591.472:599.617

К ВОПРОСУ О КОЛИЧЕСТВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ФРАКЦИЙ В СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ КОПЫТНЫХ

В. М. Куприкова

(Институт зоологии АН УССР)

Первые сведения о синовиальной жидкости мы встречаем уже в самых древних анатомических трудах, однако и до настоящего времени продолжается ее изучение. Довольно долго синовию считали лишь смазкой для трущихся поверхностей сустава, а позже — питательной жидкостью для суставных хрящей (Дитерихс, 1937; Майоров, 1938; Meyer, Smyth, Dawson, 1939; Ropes, Rossmeisl, Bauer, 1940; Davies. 1945; Смирнова, 1957 и др.). В последнее десятилетие в связи с развитием биомеханических исследований синовиальную жидкость рассматривают как весьма существенный компонент сустава, играющий большую роль в демпферных свойствах последнего (Манзий, 1959; Березкин, 1968 и др.).

Для выяснения свойств и функций синовии большое значение имеют исследования физико-химических характеристик, начавшиеся в прошлом столетии и получившие широкий размах в последние десятилетия (Frerichs, 1896; Лесгафт, 1882; Bauer, Bennet, Morblet, Claflin, 1930; Meyer, 1947; Hamerman, Schuster, 1958; Торм, 1963; Слуцкий, 1964; Castor, Prince, 1964 и др.). Но несмотря на то, что состав и физико-химические свойства синовии изучают давно, все же и сейчас еще нет более или менее полной характеристики этого биологического субстрата.

В отделе эволюционной морфологии Института зоологии АН УССР, в частности в лаборатории бионики, исследуются принципы строения и функционирования конечностей млекопитающих с целью их моделирования. Большое значение в этой работе отводится выяснению морфофункциональных основ высокой надежности конечностей. Уже первые результаты показали, что высокую надежность конечностей в большей мере обеспечивают суставы как форма соединения элементов несущей конструкции конечностей и обязательное наличие в суставных полостях синовиальной жидкости. Исследования подтвердили мнение многих авторов о том, что синовия является смазочной жидкостью для сустава, однако они также показали, что это необычная смазка, что в процессе функционирования сустава изменяется ее количество, состав и физико-химические свойства, причем характер этих изменений весьма «целесообразен»: количество и состав синовии всегда соответствуют величине и характеру нагрузки, испытываемой данным суставом, в силу чего при любом режиме сустав работает в оптимальных условиях. Эти исследования показали также, что биохимическая роль синовии не ограничена ее смазочными свойствами; не менее важны ее гидродинамические свойства, в частности перекачивание ее из одного отдела суставной полости в другой, заполнение суставных щелей, локальная концентрация ее под высоким давлением и т. д. Благодаря этим гидродинамическим свойствам синовии суставы являются мощными демпферами конечностей. Мы изучаем состав синовии органов локомоции млекопитающих с тем, чтобы лучше и глубже понять природу ее смазочных и гидродина-

мических свойств. При этом мы учитываем мнение тех ученых, которые считают, что свойства синовии определяются главным образом содержанием в ней белков и гиалуроновой кислоты (Mac. Conaill, 1966; Van Pelt, 1968 и др.).

Мы провели серию исследований синовиальной жидкости и установили содержание в ней белка и его фракций, мукопротеинов, а также гиалуроновой кислоты и ее фракций. В настоящем сообщении мы излагаем результаты исследований количества гиалуроновой кислоты и ее фракций в синовиальной жидкости некоторых копытных. Изучали суставы клинически здоровых животных: быка домашнего — *Bos taurus* L. (65); лошади Пржевальского — *Equus przewalskii* Pd. (пять); быка ватуси — *Bos brachiceros* Owen (один); свиньи домашней — *Sus scrofa domestica* L. (17); бизона *Bison bison* L. (один); лани европейской — *Cervus (Dama) dama* L. (одна); антилопы канны *Taurotragus oryx* L. (одна); марала *Cervus elaphus sibiricus* Sev. (один).

Исследовали синовиальную жидкость из плече-лопаточного, локтевого, запястного, коленного и тарсального суставов только что убитых животных.

Гиалуроновая кислота, как известно, представляет собой кислый мукополисахарид, который построен из ацетилированного глюкозамина и глюкуроновой кислоты. Принято считать, что она является чрезвычайно важным компонентом синовиальной жидкости, обеспечивающим ее вязкость и клейкость. Существует много методов определения гиалуроновой кислоты в синовии. В своих исследованиях мы использовали метод фотометрии по Бускарини в модификации Л. И. Слуцкого. Этот метод основан на фотометрическом определении гиалуроновой кислоты с помощью избирательного осаждения ее протаминсульфатом.

Вопросам методики фракционирования гиалуроната по степени полимеризации (в виде производных четвертичных аммонийных оснований) посвящен ряд работ (Nänto, Seppälä, Kulonen, 1962; Barker, 1963; Barker, Bayyuk, Brimacombe, Hawkins, Stacey, 1964; Barker, Hawkins, Hewins, 1966 и др.). В своих исследованиях мы фракционировали гиалуронат по методике Nänto и др. (1962). Гиалуронат предварительно отделяли от белкового комплекса, добавляя в синовию раствор цетилтриметиламмония бромистого, с последующей экстракцией солью хлористого магния различной концентрации: 0,1 N, 0,25 N, 1 N и 2 N. Затем ставили карбозоловую реакцию и после часовой выдержки фотометрировали пробы на ФЭК'е.

Таблица 1

Количество гиалуроновой кислоты в синовиальной жидкости суставов конечностей копытных (в *мг* %)

	Суставы				
	плече-лопаточный	локтевой	запястный	коленный	тарсальный
Бык домашний	166	168	18[illegible]	132	64
Лошадь Пржевальского	185	195	240	162	122
Свинья домашняя	—*		507		—*
Марал	190	221	24[illegible]	180	40
Антилопа канна	192	204	140	162	147
Лань европейская	190	93	102	60	30
Бык ватуси	124	152	168	110	80
Бизон	142	16[illegible]	1[illegible]	116	42

* Из [illegible] синовию не исследовали.

Содержание гиалуроновой кислоты и ее фракций в синовиальной

Вид	Сус									
	плече-лопаточный					локтевой				
	Общее количество гиалуроновой кислоты	Фракция			Сумма фракций	Общее количество гиалуроновой кислоты	Фракция			Сумма фракций
		0,25N $MgCl_2$	1N $MgCl_2$	2N $MgCl_2$			0,25N $MgCl_2$	1N $MgCl_2$	2N $MgCl_2$	
Бык домашний	166	18	46	95	159	168	24	55	88	167
Лошадь Пржевальского	185	20	50	105	175	195	22	57	82	161
Марал	190	16	46	108	170	224	6	38	170	214
Антилопа канна	192	12	40	112	164	204	12	80	100	192
Бизон	142	22	48	62	132	162	20	56	76	152

Мы установили, что содержание гиалуроновой кислоты и ее фракций в разных суставах одного и того же животного неодинаково. У всех исследованных нами видов копытных максимальное количество гиалуроновой кислоты обнаружено в синовии запястного, а минимальное — в синовии тарсального сустава (табл. 1).

Различное количество гиалуроновой кислоты в разных суставах одного и того же животного, несомненно, является ценным объективным указанием на то, что каждый из этих суставов имеет определенную биомеханическую специфику. Однако из таблицы видно, что количество гиалуроновой кислоты в гомологичных суставах разных видов животных неодинаково, что обусловлено различным характером локомоции этих животных.

Из литературы известно, что фракции гиалуроната представляют собой низкомолекулярную и высокомолекулярную гиалуроновую кислоту. Наши исследования показали различие в содержании этих фракций в гиалуронате. Преобладает в нем высокомолекулярная гиалуроновая кислота: во всех исследованных нами суставах ее содержится значительно больше, чем низкомолекулярной гиалуроновой кислоты (табл. 2). Из-за того, что при фракционировании часть гиалуроната теряется, суммарное содержание фракций несколько меньше общего количества гиалуроната в синовии суставов. Например, общее количество гиалуроновой кислоты в плече-лопаточном суставе быка домашнего составляет 166 *мг%*, а сумма фракций — лишь 160 *мг%*. Есть основания считать, что вязкость и клейкость гиалуроната определяется главным образом количеством содержащейся в нем высокомолекулярной фракции гиалуроновой кислоты.

Результаты изучения содержания гиалуроновой кислоты и ее фракций в синовии копытных свидетельствуют о том, что биомеханические условия функционирования каждого сустава данной конечности в значительной мере специфичны. По-видимому, это касается форм и размаха движений, характера распределения нагрузки. Однако было бы преждевременно анализировать специфику функции суставов только по содержанию гиалуроновой кислоты и ее фракций в синовии суставов копытных. Несомненно, что оснований для такого анализа будет значительно больше после проведения аналогичных исследований синовии стопо- и пальцеходящих животных. Но уже сейчас заметно, что запяст-

Таблица 2

жидкости суставов конечностей копытных (в *мг* %)

тав

запястный					коленный					тарсальный				
Общее количество гиалуроновой кислоты	Фракция			Сумма фракций	Общее количество гиалуроновой кислоты	Фракция			Сумма фракций	Общее количество гиалуроновой кислоты	Фракция			Сумма фракций
	0,25N $MgCl_2$	1N $MgCl_2$	2N $MgCl_2$			0,25N $MgCl_2$	1N $MgCl_2$	2N $MgCl_2$			0,25N $MgCl_2$	1N $MgCl_2$	2N $MgCl_2$	
185	27	49	105	181	132	21	35	68	124	64	16	22	25	63
240	20	56	100	176	162	20	46	80	146	122	2	33	66	103
243	8	60	168	236	180	16	48	108	172	40	8	10	16	34
440	16	106	288	400	162	—	42	100	142	147	16	40	80	136
172	2	38	116	156	116	24	32	50	106	42	—	12	16	38

ный и коленный суставы по содержанию гиалуроновой кислоты и ее фракций обладают большим сходством и что они занимают в соответствующих конечностях как бы аналогичное положение.

Таким образом, исследования содержания гиалуроновой кислоты и ее фракций в синовии копытных показали, что оно неодинаково не только у разных животных, но и в различных суставах одного животного. Как правило, гиалуроновой кислоты в синовии запястного сустава больше, чем в синовии тарсального сустава. В целом гиалуроновой кислоты в синовии суставов передней конечности содержится больше, чем в синовии гомодинамных суставов задней конечности. Концентрация высокомолекулярной фракции гиалуроновой кислоты в гиалуронате нормальной синовиальной жидкости намного выше, чем концентрация низкомолекулярной фракции. Результаты исследования показывают, что биомеханические условия и роль различных суставов одной и той же конечности различны.

ЛИТЕРАТУРА

Березкин А. Г. 1968. Некоторые физико-химические свойства синовии и ее роль в механизме суставов конечностей млекопитающих. Автореф. канд. дисс., К.

Дитерикс М. М. 1937. Введение в клинику заболеваний суставов. М.

Лесгафт П. Ф. 1882. О соединении костей между собой (лекция). СПб.

Майоров С. Н. 1938. Исследования некоторых физико-химических свойств и солевого состава синовиальной жидкости КРС. Физиол. журн. СССР, т. 24, в. 6.

Манзий С. Ф. 1959. Запястье млекопитающих в свете эволюции и функции их грудных конечностей. Автореф. докт. дисс. К.

Слуцкий Л. И. 1964. Некоторые биохимические аспекты исследования синовиальной жидкости. Тр. Рижского н.-и. ин-та травматол. и ортопедии. Т. 7.

Смирнова Л. Г. 1957. Гиалуроновая кислота и гиалуронидаза и их значение в биологии и медицине. Клинич. мед., т. 35, № 6.

Торм М. И. 1963. Повреждение менисков коленного сустава и болезнь Гоффа. Автореф. канд. дисс. Рига.

Barker S. A. 1963. Edentifizierung der Hyaluronsaure — Komponant von normaler und pathologischer Synovialflussi gkeiten. Clin. chem. acta, № 8.

Barker S. A., Bayynk S. H. I., Brimacombe J. S., Hawkins C. F., Stacey M. 1964. The strukture of the hyaluronic acid component of synovial fluid in rehumatoid arch ritis. Clin. chem., № 4.

Barker S. A., Hawkins C. F., Hewins M. 1966. Mucopolysaucharides in synovial Fluid. Detection of chondortin Sylphate. Ann. Rheum Dis. № 3.

Bauer W., Bennett G., Morble A., Claflin D. 1930. Observations on the normal synovial fluid of cattle .J. Exper. Med., v. 52.

Castor C. W., Prince R. K. 1964. Modulation of the molecular charakter of hyaluronic acid in man: the offents of diseares and dihgs. Lab. clin. Med., v. 64.
Davies D. V. 1945. Stainig reaktion of normal Synovial membrane with special reference to origine of Synovial mucin. J. Anat., v. 77.
Hamerman D. Hille Schuster. 1958. Hyaluronate in Normal Human Synovial Fluid. J. clin. Invest, v. 37.
Frericks F. 1846. Handbuch der Physiologie mit Reucksicht auf physiologische Pathologie Braunschweig, v. 3, abt. 1.
Mac Conaill M. A. 1966. The Synovial fluid. Lab. Pract., v. 15.
Nänto V., Seppälä P., Kulonen B. 1962. Effut of Hydrocortisone administratien on the Hyaluronic Acid Fractions of Synovial Fluid in Rhevmatoid arthritis. Clin. chem. acta, № 7.
Meyer K., Smyth E. M., and Dawson M. H. 1939. Isolation of mucopolysacharide from Synovial fluid. J. biol. chem., v. 128.
Meyer K. 1947. Biological significance of hyaluronic acid and hyaluronidase. Physiol. Rev., v. 27.
Ropes M. W., Rosmeisl E. C. and Bauer W. 1940. Origin and nature of normal Synovial fluid. J. clin. Invest., v. 19.
Van Pelt R. W. 1968. Characteristics of normal equine tarsal Synovial fluid. Can. J. Comp. Med. Vet. Sci., № 9.

Поступила 12.IX 1969 г.

ON THE PROBLEM OF AMOUNT OF HYALURONIC ACID AND ITS FRACTIONS IN SYNOVIAL LIQUID OF UNGULATA

V. M. Kuprikova

(Institute of Zoology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR)

Summary

Investigations of the content of hyaluronic acid and its fractions in the synovia of shoulder-scapular, ulnar, carpal, knee and tarsal joints of Ungulata *Bos taurus* L., *Equus przewalskii* Pd., *Bos brachiceros* Owen, *Sus scrofa domestica* L., *Bison bison* L., *Cervus (Dama) dama* L., *Taurotragus oryx* L., *Cervus elaphus sibiricus* Sev. showed that it is not similar not only in homologous joints of different species of animals but also in different joints of one and the same animal. Synovia of carpal and knee joints contains the highest amount of hyaluronic acid. In synovia of the fore-limb joints there is a greater amount of hyaluronic acid than in synovia of the hind limb homodynamic joints. Concentration of a high-molecular fraction of hyaluronic acid in hyaluronate of normal synovial liquid is much higher than that of low-molecular one.

The results of the investigation permits supposing that the biomechanical conditions and role of different joints of one and the same limb are different.